

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-287019

(43)公開日 平成7年(1995)10月31日

(51)Int.Cl. ⁹	識別記号	片内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 35/02	Z			
C 1 2 M 1/00	A			
C 1 2 Q 1/68	A	9453-4B		
// C 1 2 N 15/09		9281-4B	C 1 2 N 15/ 00	A
			審査請求 有	請求項の数14 O L (全 16 頁)

(21)出願番号 特願平7-82404

(22)出願日 平成7年(1995)4月7日

(31)優先権主張番号 P 4 4 1 2 2 8 6 . 1

(32)優先日 1994年4月9日

(33)優先権主張国 ドイツ (DE)

(71)出願人 591005589

ベーリンガー・マンハイム・ゲゼルシャフ
ト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツン
グ

BOEHRINGER MANNHEIM
GESELLSCHAFT MIT B
ESCHRANKTER HAFTUNG
ドイツ連邦共和国、68305 マンハイム、
ザントホーファー シュトラッセ 116

(72)発明者 ゲルハルト ビーンハウス

ドイツ連邦共和国、デー-82407 ビー
ンバッハ、カーペンデルシュトラッセ 1

(74)代理人 弁理士 朝日奈 宗太 (外3名)

最終頁に続く

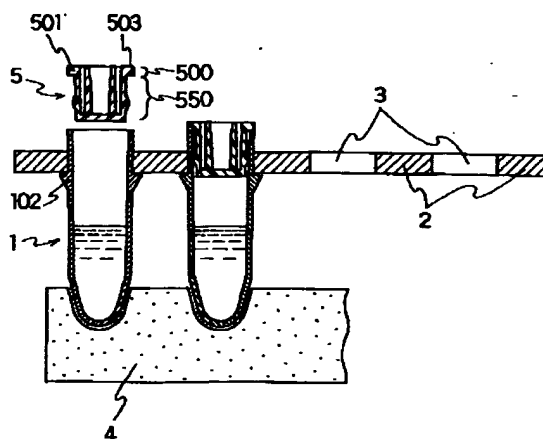
(54)【発明の名称】 反応連鎖の無汚染処理装置および方法

(57)【要約】

【目的】 好適な反応容器および密閉装置だけでなく、反応容器の中で自動的に反応を実行するための装置および方法を提供する。

【構成】 数個の反応容器と数個の試薬保管容器と数個のサンプル容器と前記容器のいくつかのための個々の密閉装置と前記密閉装置を自動的に開くための装置とからなることを特徴とする反応容器の中で反応を自動的に実行する反応連鎖の無汚染処理装置、および反応容器の中に反応混合物を供給する工程と個々の密閉装置によって反応容器を密閉する工程と前記密閉装置を反応容器から取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴とするいくつかの容器の中で化学反応を自動的に処理する反応連鎖の無汚染処理方法。

FIG. 1



1 反応容器
2 保持プレート
5 蓋

【特許請求の範囲】

【請求項1】 反応容器の中で反応を自動的に実行するための装置であって、数個の反応容器と、数個の試薬保管容器と、数個のサンプル容器と、前記容器のうちのいくつかのための個々の密閉装置と、前記密閉装置を自動的に開くための装置とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理装置。

【請求項2】 自動ピペetting装置をさらに含む請求項1記載の装置。

【請求項3】 反応容器の中に収容された液体の温度を調節する装置をさらに含む請求項1または2記載の装置。

【請求項4】 容器の開口の中に伸びている部分を有する容器のための蓋であって、前記伸びている部分が前記容器から蓋を取り外す手段を有してなることを特徴とする蓋。

【請求項5】 前記蓋と容器のあいだに介在する空間を密閉するための密閉リングを有してなる請求項4記載の蓋。

【請求項6】 前記蓋を取り外す手段と密閉リングとのあいだに介在する空間を設けてなる請求項5記載の蓋。

【請求項7】 突出部が平坦な面を有してなる請求項4、5または6記載の蓋。

【請求項8】 反応容器のための請求項4記載の蓋。

【請求項9】 試薬保管容器のための請求項4記載の蓋。

【請求項10】 前記試薬保管容器がネジ蓋によって密閉されてなる請求項9記載の蓋。

【請求項11】 サンプル容器のための請求項4記載の蓋。

【請求項12】 数個の容器の中で化学反応を自動的に処理するための方法であって、反応容器の中に反応混合物を供給する工程と、個々の密閉装置によって反応容器を密閉する工程と、前記密閉装置を反応容器から取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理方法。

【請求項13】 数個の試薬保管容器を用いて化学反応を自動的に処理するための方法であって、個々の密閉装置によって密閉された試薬保管容器の中に試薬液を供給する工程と、試薬保管容器から密閉装置を取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程と、試薬液を取り出す工程と、個々の密閉装置によって試薬保管容器を自動的に再び密閉する工程とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理方法。

【請求項14】 数個のサンプル容器からのサンプル液の中で化学分析を自動的に処理するための方法であって、個々の密閉装置によって密閉されたサンプル容器の中にサンプル液を供給する工程と、サンプル容器から前記密閉装置を取り外すための装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴とする反応

連鎖の無汚染処理方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、好適な反応容器および密閉装置だけでなく、反応容器の中で自動的に反応を実行するための装置および方法に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】健康装置の主要な構成は、いわゆる医療診断の方法によって病気を検出することである。これは、病気に冒されている可能性のある患者から採取したサンプルを用いて、特定の検体に対する反応を検出することを含んでいる。酵素反応の基質、酵素自身、抗原および最近では核酸もが、好適な検体であることがわかっている。これに関連して、後半の物質を分析することは、ときには存在濃度が非常に小さいので、ずっと困難であるとされている。ほんのわずかの濃度の妨害物質が測定結果に多大な影響を及ぼすことから、信頼性のある結果を求めるには、飛散ないしキャリオーバー(carry-over)のない処理であることが必須条件である。とくに、いくつかの分析が1つの装置において連続して実行される試験のばあいにおいては、キャリオーバーによる危険がかなり存在する。

【0003】核酸診断学においては、たとえば、重合体連鎖反応のような増幅(amplification)方法を用意することによって、検出限界がかなり低減される(米国特許第4,683,195号明細書)。しかしながら、その代わりに、汚染によって測定結果を誤る危険も、とくに空中でのエアゾルの形成によって増加する。そのため、分析されるサンプルの準備および増幅は、隔離室において実行されるべきである。さらに、油やワックスによる被覆および低感度の内部酵素汚染除去システムの利用がさらなる解決策として提案されている(米国特許第5,035,996号明細書)。しかしながら、これらの解決策は面倒であり、いくつかの反応を自動的に実施することには適していない。

【0004】重合体連鎖反応のばあいは、円錐形であるために下方に設けられたヒーターからの熱をよく伝えることが可能な特殊な管が使用される。さらに、熱サイクルを実行するために用いられる装置のほとんどは、キャップヒーターを利用して蒸発を抑制し、凝縮を回避する。

【0005】手で破ることができる普通のカバーによって密閉することができるいくつかの反応容器を含むプレート(plate)についても述べられている。この構成の欠点は、プレートが開かれたときに1個の反応容器からのハネが近くの反応容器の中に入り込み、キャリオーバーの危険性を増幅する可能性があることである。

【0006】ヨーロッパ特許第0408208号明細書は、また反応容器について、開いた96個の孔を有するマイクロタイタープレート(microtitre plate)型

の、すなわち：化学反応、とくに臨床分析を実行するための多重収納装置型の反応容器について述べている。このばあいにおける汚染の危険性も非常に高い。

【0007】いくつかの反応を自動的に処理する容器についての前述の提案のすべてには、反応容器を有効に密閉することができない、または反応容器が自動化に適さない閉じ蓋を有しているというような欠点がある。そのため、これらの装置はかなりの汚染の可能性を伴う、処理量が大い日常的な適用にのみ利用することができる。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、反応容器の中で反応連鎖(reaction sequences)を自動的に実行するための無汚染処理(contamination-free operation)装置であって、その装置が、数個の反応容器と、数個の試薬保管容器と、数個のサンプル容器と、前記容器のうちのいくつかのための個々の密閉装置と、前記密閉装置を自動的に開くための装置とからなることを特徴としている。

【0009】前記技術は、サンプルおよび試薬の保管容器を扱うために同様に用いることができる。すなわち、本発明は、数個の容器の中で化学反応を自動的に処理するための反応連鎖の無汚染処理方法でもあって、反応容器の中に反応混合物を供給する工程と、個々の密閉装置によって反応容器を密閉する工程と、前記密閉装置を反応容器から取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴としている。

【0010】また、本発明は、数個の試薬保管容器を用いて化学反応を自動的に処理するための反応連鎖の無汚染処理方法であって、個々の密閉装置によって密閉された試薬保管容器の中に試薬液を供給する工程と、試薬保管容器から密閉装置を取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程と、試薬液を取り出す工程と、個々の密閉装置によって試薬保管容器を自動的に再び密閉する工程とからなることを特徴としている。

【0011】さらに、本発明は、数個のサンプル容器からのサンプル液の中で化学分析を自動的に処理するための反応連鎖の無汚染処理方法であって、個々の密閉装置によって密閉されたサンプル容器の中にサンプル液を供給する工程と、サンプル容器から前記密閉装置を取り外すための装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴としている。

【0012】また、本発明は前述の装置に好適な反応容器および密閉装置に関する。

【0013】本発明の装置は、自動的に反応を実行させることに適している。これに関連して、自動とはサンプルの装置内への導入後、測定結果がえられるまでの手動による処理工程が省略されることを意味する。処理工程は、コンピュータプログラムによって好適に分割された装置の中において所定の方法で進行する。当該装置はさらに、連続したいくつかの反応を、異なる試薬保管容器

の中においても実行することに適している。

【0014】原則的には、いかなるタイプの化学反応であっても本発明の装置の中で実行することができる。これらの化学反応は、とくに分析過程においてサンプルの成分が通過しなければならない工程を含んでいる。発生する反応は、決定すべき検体のタイプに依存している。このように、たとえば免疫学的に活性な混合物が通常は免疫学的な決定法により決定される。このばあい、一方において抗原と付着素の相互作用および他方においてそれらに向けられた抗体が利用される。核酸試験のばあいには、互いに本質的に補完し合う核酸間の比較的特殊な相互作用が用いられる。

【0015】核酸分析方法は、サンプルの準備、核酸処理および処理された核酸の検出という工程に本質的に分けることができる。本発明の装置は、とくに核酸処理反応を実行するために構成されている。これらの反応はとくに核酸についての増幅を含んでいる。これには多くの方法がある。ヨーロッパ特許第0 329 822号明細書に述べられている方法のように等温で実行される増幅もあるが、多くの他の増幅は、たとえばヨーロッパ特許第0 200 362号明細書に述べられているように温度変化サイクル(熱サイクル)を用いて実行される。

【0016】本発明の装置は、反応液の取り出しに好適ないくつかの反応容器を含んでいる。反応液の量は、5 μ lから5 mlのあいだにあることが好ましく、10 μ lから200 μ lのあいだにあることがとくに好ましい。当該反応容器は反応溶液と化学反応を起こさない、ポリスチレンやポリプロピレンなどのプラスチックのような材料からできている。熱サイクルを実行することを意図するなら、これらの反応容器には耐熱性も必要である。たとえば、一般に使用されるパーキン エルマー(Perkin Elmer)社製のPCR(polymerase chain reaction: 重合体連鎖反応)試験管が本発明の反応容器として好適である。

【0017】本発明の本質的な特徴は、これらの反応容器に個々の密閉装置を使用することにある。反応容器に個々に蓋をすることについては、以前には考慮されたことがなく、試験管の組み合わせったプレートの設計者が、とくに好適であるように多様な蓋について悩むことで助けられてきたのかも知れない。さらに、個々の密閉装置を使用することは、本発明の個々の密閉装置によって達成される技術的な挑戦である。密閉装置は、容器と同様に、たとえばポリスチレン、ポリプロピレンなどの耐熱性材料から製造されることが好ましく、既知の射出成形法によって製造されることがとくに好ましい。

【0018】反応容器内で実行可能な反応は、物理的なタイプ(たとえば、吸収作用)または生化学的なタイプ(たとえば、酵素反応、増幅など)のものであってもよい。本発明の装置のさらに重要な特徴は、自動的に密閉

装置を開くための装置である。この装置は、おのおののばあい用いられる個々の密閉装置と技術的に調和している。

【0019】反応を自動的に実行するために、液体は反応容器の中に分配される。自動ピペティング(automatic pipetting)装置の使用、好ましくは使い捨ての先端を有する装置の使用は、これに対してとくに有利であることがわかった。この処理において、実行されるべき反応の成分は、なんらかの好適な順序でピペットで取ることができ、たとえば、検体を含むサンプル液を試薬保管容器に最初に加えることができる。もし必要なら、この処理は、所望により、本発明の装置の外部において自動ピペティング装置を用いずに先に実行することも可能である。所望により自動ピペティング装置を用いて実行することができるその後の工程において、反応に必要な試薬が試薬保管容器の中でサンプル液に添加され、その結果、本発明の方法をまた使用することができる。

【0020】他の実施態様においては、必要な試薬は事前に固体または液体の形で反応容器に加えられ、これにサンプル液がピペットで添加される。

【0021】

【実施例】つぎに添付図面を参照しながら本発明の反応を自動的に実行するための装置および方法を説明する。

【0022】図1は本発明の蓋を有する複合プレートを示す立面断面図、図2は本発明の蓋の一実施例、取外し装置および反応容器を示す立面断面図、図3は本発明の蓋のもう一つの実施例、取外し装置および反応容器を示す立面断面図、図4は本発明の蓋のさらにもう一つの実施例、取外し装置および反応容器を示す立面断面図、図5は反応を実行するための本発明の装置の概略説明図、図6は本発明のネジ蓋の一実施例を示す立面断面図、図7は本発明の改良された蓋を示す立面断面図、図8は本発明の取外し装置のための停止ユニットを示す断面図、図9は停止要素を含む本発明の外部ケーシングを示す断面図、図10は本発明の手動取外し具を示す部分断面図、図11は容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【0023】マイクロタイタープレートに96個の孔を有する保持プレートの中で反応を自動的に実行させる装置についてつぎに述べるが、いくつかの反応容器を配列するのにとくに好ましい実施例である。その装置は、とくに熱サイクルを用いて重合体連鎖反応を実行するのに好適である。パーキン エルマー サイ클ー 9600 (Perkin Elmer cyclor 9600)装置のための保持プレートが図1に示されている。反応容器1は96本の試験管のための保持プレート2の孔3の1つの中に位置するように描かれている。反応容器は係合部(bard)102によって保持プレートの中に固定されている。反応容器を有する保持プレートがPCRサイクラーの中に挿入されると、反応容器の先端はサイクラーの熱ブロック4の中に

達する。本発明に好適な蓋5は、図1に概略的に描かれている。反応容器を密閉するために、蓋5は、ストッパー501のところまで反応容器の中に押し込まれる。

【0024】さらに、本発明は、反応容器の開口の中に延びる部分を有する反応容器のための蓋に関するものであって、その部分が反応容器から蓋を外すためのデバイスを含むことに特徴がある。

【0025】本発明にかかわる蓋は、少なくとも2つの部分を有している。その一つの部分550は、反応容器が蓋によって閉じられたときに、それぞれの反応容器の開口の中に延びるように構成されている。もう一つの部分500は、そのとき依然として反応容器から突出している。

【0026】前記部分550は、反応容器から蓋を外すデバイス551を含んでいる。さらに、この部分は、反応容器を当該蓋で密閉する手段、すなわち、密閉縁または密閉リング552を有する。

【0027】前記部分500は、反応容器が閉じられたときに、蓋が反応容器の中に完全に姿を消すことがないようにストッパー501を含むことが好ましい。これはまた、蓋の表面503の正確な設置を保証する。蓋の部分500は、反応容器の開口からほんの少しだけ突出していることが好ましい。反応容器から突出している蓋の部分は、表面503と本質的に同じ高さにある。このことは、蓋に反応液からの水蒸気が凝縮することを回避するためにキャップヒーティング(cap heating)を用いることを意図するばあいに有利である。それによって、キャップヒーティングは、いくつかの反応容器の表面503の上にちょうど載ることができる。

【0028】蓋を自動的に取り外す装置と蓋とのあいだの抵抗力が、当該蓋と反応容器の内壁とのあいだの抵抗力よりも大きくなるようにするすべての構成が、蓋を取り外すためのデバイス551として利用されてもよい。構成として技術的に実現性があるものは、たとえば装置を部分550にかみ合わせるために円錐表面やリングを使用することである。

【0029】本発明の蓋の第一の実施例(反応容器が閉じられた状態にある)と好適な開口装置7とが、図2に示されている。このばあいにおいて、蓋を取り外すためのデバイスは、反応容器に対して閉じているが、周囲の環境に対して開いている円錐形のリセス(recess)551として構成されており、蓋を取り外すための装置のテーパー付き取外しプラグ700に適合することができる。この過程において、環状の密閉リング552を有する構成要素が反応容器の内壁101を押している。本発明の蓋のとくに有利な構造の詳細は、テーパー付き取外しプラグ700が部分550に挿入されたときに、装置に作用する圧力が密閉縁に作用する圧力の実質的な増加をもたらさないように、デバイス551が密閉縁552と構造的に分離していることである。構造上の分離は、図2

に示すようにデバイス551と密閉縁552とのあいだに介在空間553を設けることによって達成される。図2において、この介在空間は反応容器の内部に対して開いている。蓋の表面503はこのばあい比較的大きいので、キャップヒーターとの接触表面およびヒーターから蓋への熱移動がとくに大きい。

【0030】とくに有利な蓋が図3に示されている。図2に示される蓋との本質的な差異は介在空間553が反応容器に対して開いておらず、むしろ周囲の環境に対して開いているように構成されている。本実施例は、蓋の反応溶液との接触面または覆っている気体の空間が小さいので、わずかな表面だけが蓋への液体の凝縮に対して有効である。

【0031】介在空間553を設けない蓋が図4に示されている。この蓋も本発明の装置に利用できるが、テーパー付き取外しプラグが挿入されたときに、試薬保管容器の内壁に作用する圧力が増加し、その結果、反応容器から蓋を取り外すために前述のばあいよりも大きな力が必要である。

【0032】自動的に密閉装置を開くための装置は、蓋を取り外すための蓋内部の仕組みの形状と調和している。蓋の抵抗力をこえて部分550に押し込まなければならない取外しリング701を有するテーパー付きプラグがとくに有利であることがわかった。テーパー付きプラグが引き込まれると、リングは抵抗として作用する。反応容器の内壁に蓋が及ぼす圧力は、蓋とのあいだのリングの抵抗よりも小さいので、蓋は反応容器から取り外される。

【0033】テーパー付き取外しプラグ700を何度も使用することができるように、装置は反応容器から外された蓋をテーパー付き取外しプラグから取り外すための構成要素を含むことがまた好ましい。たとえば、これは取外しジャケット710であることができる。

【0034】装置は、反応容器の中でサンプルを処理するために、反応容器の配列と同様に並べられる。もし複合プレートを用いれば、装置はX-Y移動ユニットの上に配置されて、それぞれの反応容器の上を移動することができる。テーパー付き取外しプラグの先端は、閉じられた反応容器の方向(Z方向)にテーパー付き取外しプラグ700を移送することによって、蓋の中に挿入される。この動きは一般的には移送面に垂直であろう。両方の移送工程は、原理的にはコンピューター制御のロボットによって実行することができるが、一般にピペティングに用いられるラック歯車を装置7付きのラック歯車に置き換えることによって、たとえばテキサン社(Tecan)製の従来の自動化されたピペッター(pipettor)を改造することも可能である。ピペティングユニットに加えて、蓋を自動的に開くための装置を自動化されたピペッターのラック歯車に取り付けることも可能である。したがって、自動化されたピペッターはプログラム化されて

いる。

【0035】いくつかの反応容器を同時に、すなわち、マイクロタイタープレートの1列を処理するために、いくつかの個々の蓋が同時に開けられるように、いくつかの装置7を移送ユニットの上に取り付けることができる。しかしながら、この実施例は汚染を回避することに關しては明らかに好ましくないであろう。

【0036】本発明、とくに自動操作蓋は、反応容器だけでなく、いくつかの反応を実行する装置におけるすべてのタイプの容器に利用することができる。これらの容器は、内部でいくつかの反応パートナー間の反応が進行し、このばあい反応容器と呼ばれる容器に加えて、所望の反応に対する個々の反応パートナーを保管する容器をも含んでいる。液体サンプルの分析のばあい、サンプル容器と試薬保管容器とを区別することができる。1つまたはいくつかの検体の存在またはその量を調べることが意図されている液体は、サンプル容器の中に保管される。サンプル採取(たとえば、調べられるべき患者の血液採取)および実行可能な処理(血漿と血清の分離)ののちに、サンプル液はサンプル容器の中に移送され、もし必要なら、本発明による自動操作蓋によって密閉される。そののち、サンプル容器は、装置たとえば自動化された分析装置の中に個々にまたはさらなるサンプル容器とともに挿入される。本発明による処理が進行するために、蓋がサンプル容器から取り外され、サンプル液の移送を行う前にサンプル容器から反応容器に所望の量のサンプル液が移される。本発明の装置の長所は、サンプル容器も自動操作蓋によって閉じられるのであるが、サンプル容器が同じ蓋または新しい蓋によって再び簡単に閉じられることにある。新しい蓋によって再び蓋をするという好ましいばあいにおいて、古い蓋は、取外しジャケットによってテーパー付き取外しプラグから廃棄物容器に移され、新しい蓋が蓋保管容器からテーパー付き取外しプラグの上に引き出される。そこで、その新しい蓋はサンプル容器の上に置かれ、テーパー付き取外しプラグは取り外されるが、蓋はサンプル容器の上に残ったままである。蓋は、さらなる検体の確定のために再びその同じサンプルから取り外され、今度はある量のサンプル液が移される。蓋が隔壁を有すると、蓋を取り外さずに差し込みピペットを用いてサンプル容器からサンプルを移すこともできる。反応が実行されると、さらに試薬を反応容器に移送する必要があるかもしれない。試薬は、本発明によって開閉されてもよい試薬保管容器の中に保管されている。そこで、試薬保管容器は試薬のための保管容器を意味すると理解され、これらの試薬は反応容器の中で反応を実行するために用いられる。試薬は一般に、たとえばいくつかの反応を実行するために大量に供給されなければならないので、これらの試薬保管容器はしばしば20mlから500mlのあいだの容量を有するビン

の自動操作蓋によって閉じられてもよい。このことは、製造業者によって一般的に行われている。試薬保管容器は装置の好適な位置に置かれる。特定の試薬保管容器の中に保管された試薬を用いることが必要な反応を反応容器の中で実行しようとする、直ちに自動操作蓋が試薬保管容器から取り外され、必要量の試薬が引き出されて反応容器の中に移される。引き続いて、試薬保管容器は取り外された蓋または新しい蓋によって再び閉じることができる(サンプル容器を参照)。

【0037】大容量の試薬保管容器のばあい、通常のネジ蓋を本発明の自動操作蓋の使用によって改良すれば、従来使用される試薬保管容器を利用することも原理的には可能である。このため、本発明の蓋によって閉じられる小さな開口が、ネジ蓋の上面に設けられることが好ましい。この装置の長所は、試薬保管容器がネジ蓋によって閉じられる比較的大きな開口によって充填されるが、試薬液の除去は本発明によって閉じられる比較的小さな開口によって実行することができることにある。

【0038】さらに、本発明は反応容器の中で化学反応を自動的に実行するための方法であって、(1) 試薬および(または)反応容器の中に反応混合物を準備する工程と、(2) 個々の密閉装置により前記反応容器を閉鎖する工程と、(3) 前記容器から蓋を取り外すための装置により個々の密閉装置を自動的に開放する工程と、からなることを特徴としている。

【0039】前記方法は、自動操作蓋が使用され、装置の中で実行されることを除き、原理的には従来の既知の手動による方法と同様に進行する。もちろん、自動操作蓋は手で開閉することもできる。反応混合物を含み、自動操作蓋によって閉じられる反応容器の準備が中心となる特徴である。これは、とくに熱サイクルにおいて進行する反応に適用される。反応が完了したのちに、蓋は蓋を取り除くための装置の助けによって反応容器から取り外される。これは、蓋の中に設けられた手段の中に装置を挿入し、蓋とともに装置を引き出すことによって達成される。続いて、蓋は、取外しジャケットの中のテーパー付き取外しプラグを引き戻すことによって、テーパー付き取外しプラグから取り外すことができる。そのうち、反応混合物は反応容器から取り除くこともできるが、さらにその中で処理されることもでき、もし必要なら、(新しい)蓋によって再び閉じることでもできる。

【0040】本発明の蓋の長所は、平坦な表面を設けることができるという、とくに簡単なことが実現できるために、キャップヒーターの利用が可能なることにある。また、蓋を開くための手段が容器下方の空間の中に移動することにより、材料を節約し、製作方法を簡潔にすることができる。すなわち、前記手段の容器下方の空間中への移動により、反応溶液上方の気体の空間を減少させている。そのため、反応溶液を多量に用いて前記空間を少なくする必要がないので、高価な試薬および反応溶液の

使用量を節約するとともに、取扱いが容易な比較的大きな反応容器を使用することによって、組立方法を簡潔にすることができる。さらなる長所は、反応容器の中に突出する蓋の部分によって、反応溶液上方の気体の空間をできるだけ小さくすることができることである。この長所の結果として、ピペット操作のあいだにハネを飛ばす可能性があることに関して不利となるであろう反応容器の壁の高さを減少させること、の必要性がなくなる。本発明の蓋は自動操作に適しているので、液体中の検体を検出する装置の完全な自動化が容易になる。

【0041】本発明は、とくに免疫学的検定または核酸診断の原理にしたがって、体液の成分分析に利用することができる。前述の長所により、核酸検出の適用がとくに好ましい。核酸の検出方法は、たとえば重合体連鎖反応(ヨーロッパ特許第0 200 362号明細書)のような液体中における核酸の増幅を実行するための工程またはもう一つの装置を含むこともできる。その後の検出針を伴う混成反応も本発明の反応容器の中で実行することができる。このばあい、本発明の蓋の助けによって何度も反応容器を開くことも可能である。

【0042】図1は、反応容器1、熱ブロック4および本発明の蓋を有する複合プレートを示している。

【0043】図2~4は、好ましい取外し装置および反応容器とともに、本発明の方法を実行する蓋の全体図を示している。

【0044】図5は、反応を実行するための本発明の装置を示している。このばあい、反応容器および蓋を有する複合プレートは、参照符号010によって示される。試薬保管容器011、012および013およびいくつかの基本的なサンプル容器014、015および016が設けられてもよく、これらから反応に必要な量がピペティングユニット017によって取り出され、反応容器1の中に移される。反応容器の密閉、これはもし必要ならば取外し装置7によって実行することができるが、反応および取外し装置による蓋の開放ののちに、さらに試薬をピペットによって加えることができる。そこでもし必要ならば、信号の測定は反応容器自体の中か、または、反応混合物を移したのちにおいては測定ユニットの中で実行される。従来の自動化されたピペッター(たとえば、テキサン社製のもの)のXYZ移送ユニットのラック歯車018が図に示されている。

【0045】前述した汚染の恐れも、装置の上で露出している試薬に起因するものとすることができる。図6は、従来の製造機械を用いて加工し、そのうち装置の中で使用することができる本発明にかかわるネジ蓋の一実施例を示している。ネジ蓋8は、ネジ山801および本発明の蓋によって開閉可能なサンプリング用の開口802を有している。隔壁を有する一実施例においては、採血後すぐに特殊なサンプル管の中に注射器によって移すことができるサンプルに適用される。図7は、このため

に改良された本発明の蓋を示している。これは、一般のビベティング針によって差し込むことができる隔壁555を有している。本実施例の長所は、本発明の蓋を外さなくともサンプルの取り出しが何度もできることである。隔壁は蓋のサンプル容器の中に伸びている部分に配置されることが好ましい。

【0046】図8は、取外し装置のための停止ユニットを示している。これは、停止要素2103とともに、押圧ピン2105の周りの押圧バネ2106が出発点に保持している押圧片2101によって操作される。停止要素2103は、停止ジャケット2102に中を移動し、押圧ピン2105は開放ケーシング710の中を移動する。

【0047】この停止ユニットは、蓋を取り外すための装置におけるだけでなく、手動によっても使用することができる。停止要素は図9に示される外部ケーシング2002の中に保持されるのが好ましい。停止ユニットは参照符号2100が付されている。

【0048】手動取外し具が図10に示されている。

【0049】図11～16は、容器から蓋を外すための工程A～Fを示している。工程Aは、取外し要素の最初の位置および本発明の蓋によって密閉されている容器を示している。工程Bにおいて、取外し要素は容器を含む要素の上に設置される。工程Cにおいて、テーパー付き取外しプラグが蓋の部分550の中に挿入される。テーパー付き取外しプラグをわずかに引き戻すことによって、テーパー付き取外しプラグは、予め設けられた狭くなった位置でかみ合う（工程D）。蓋は、さらにテーパー付き取外しプラグを取外しジャケットとともに引き戻すことによって容器から取り外される（工程E）。取外しユニットは、工程Fにおいて反応容器とともに要素から引き上げられる。図に示されていないつぎの工程Gにおいて、取外しジャケットを取外しリングの上に押すことによって蓋は取り外される。続いて、取外しユニットは再び最初の位置にあるか、または最初の位置に戻されることができる（工程A）。

【0050】[実施例1] 増幅反応の処理手順は、実験*

[処理手順]

工程

操作

処理手順の開始

- 1 ビベティングユニットを有する第1アームが出発位置からビベット先端保持器に移動し、ユニットに新しいビベット先端を取り付ける。

【0056】

- 2 開口および取外し装置7を有する第1アームが、開始位置から検体014を含むサンプル容器に移動する。

【0057】

- 3 開口および取外し装置（第2アーム）についての処理手順装置が開始位置の中に移動し、取外し要素を蓋の表面に配置し、テーパー付き取外しプラグ700を蓋の内側に挿入し、

* 室口ロボットと本発明の対象とのあいだの相互作用のための可能な手順の例として、つぎのように用いられる。すべての要素のあいだの相互作用によって、反応連鎖は実行されることができる。

【0051】検体を含むサンプルを体内の液体（たとえば、血液）から採取する前工程が従来の手順に従って実行されるが、ここではこれに言及しない。本発明にかかわる個々の密閉装置を有する反応容器の中に存在するサンプル液（このばあい、血液サンプルからの精製された核酸）中の検体が、自動化された増幅処理の連続の最初の出発点である。

【0052】反応連鎖の汚染のない処理のための装置はさらに、(1) テキャン社(Tecan Company)の実験室ロボット(RS9652SLD型)であって、第1アームが自動ビベティングユニット017を含み、第2アームが開口および取外し装置7を含み、(2) 反応容器1を有する複合プレート2を備え、かつ個々の密閉装置5を含むパーキン エルマー社のサーモサイクラーであって、複合プレートが反応容器を保持するためのリセスを有する保持プレートとその下方に位置して対応するリセスを有する熱ブロック4とから構成されている。

【0053】必要な試薬容器、増幅反応のための検体を有する密閉されたサンプル、測定セルと保管容器、廃棄物容器およびビベットを有するビベット先端支持器が実験室ロボットプラットフォームの上に配置されている。すべての容器は、個々の密閉装置によって密閉されており、使用前に開けられる。

【0054】つぎの処理順序は、すべてのユニット、容器、要素および物質が処理のために準備されており、増幅反応が新たに始まろうとしていると仮定している。アームの「待機」位置は、容器ゾーンの外の実験室ロボットプラットフォームの上の所定の位置を示しており、別のアームが同じ容器に接近すること許している。2つのアームのおおのが、自身の「待機」位置を有している。

【0055】

13

テーパー付き取外しプラグを取外し装置7を持ち上げることによって押し込められ、
蓋が容器から取り外され、
蓋を有する第2アームが反応容器の開口の領域から容器の隣の「待機」位置の中に移動する。

【0058】

- 4 ビベティングユニットを有する第1アームおよびビベット先端は、ビベット先端保持器から検体のサンプル容器に移動する。

【0059】

- 5 サンプル取り出しの処理手順（第1アーム）
ビベット先端を有するビベティングユニットを降下させ、
サンプル液を先端のなかに吸い込み、
ビベット先端とサンプル液とを有するビベティングユニットを持ち上げる。

【0060】

- 6 ビベット先端とサンプル液とを有するビベティングユニットを備えた第1アームが増幅容器の開口の隣の「待機」位置の中に移動する。

【0061】

- 7 蓋を有する第2アームが検体を有するサンプル容器の開口に移動する。

【0062】

20

- 8 蓋をし、密閉する処理手順（第2アーム）
蓋を有する第2アームが容器開口の上に移動し、
蓋が容器の上に降下され、
蓋が開口装置のテーパー付き取外しプラグから引き離され、
容器が蓋で密閉され、
第2アームが「待機」位置に移動する。

【0063】

- 9 開口および取外し装置を有する第2アームは、「待機」位置から複合プレート上の所定位置にあるの反応容器1（増幅容器）に移動する。

【0064】

30

- 10 開口および取外し装置の処理手順（第2アーム）
装置7は移動位置の中に移動し、
取出し要素が反応容器1の蓋の表面に設置され、
テーパー付き取外しプラグが蓋の内側に挿入され、
テーパー付き取外しプラグが押し込められ、
蓋が容器から取り外され、
開口および取外し装置が蓋とともに容器から取り除かれ、
蓋を有する第2アームが「待機」位置から容器開口の領域に移動する。

【0065】

- 11 ビベット先端とサンプル液を有するビベティングユニットを備えた第1アームは、「待機」位置から容器1（増幅容器）の開口に移動する。

【0066】

- 12 サンプル受渡し手順（第1アーム）
ビベット先端とサンプルを有するビベティングユニットを降下させ、
サンプル液が先端から移され、
ビベット先端を有するビベティングユニットを引き上げて外し、
第1アームが廃棄物容器に移動し、
使用済みの先端が解除され、
第1アームが開始位置の中に移動する。

【0067】

50

15

- 【0068】 13 蓋を有する第2アームは増幅容器の開口に移動する。
- 14 蓋をし、密閉する処理手順(第2アーム)
蓋を有する第2アームは容器開口の上に移動し、
蓋が容器の上に降下され、
蓋が開口装置のテーパー付き取外しプラグから引き外され、
容器が蓋で密閉され、
第2アームが「待機」位置に移動する。
- 【0069】 15 ビベッティングユニットを有する第1アームは、開始位置からビベット先端保持器まで移動し、新しいビベット先端をユニットに取り付ける。
- 【0070】 16 開口および取外し装置を有する第2アームは、「待機」位置からプラットフォーム上の試薬容器に移動する。
- 【0071】 17 開口および取外し装置についての処理手順(第2アーム)
装置7が開始位置の中に移動し、
取外し要素が蓋の表面に配置され、
テーパー付き取外しプラグが蓋の表面に誘導され、
テーパー付き取外しプラグが蓋の内側に挿入され、
テーパー付き取外しプラグが押し込められ、
蓋が容器から取り外され、
蓋を有する開口および取外しユニットが容器から取り外され、
蓋を有する第2アームが容器の開口領域から容器の隣の「待機」位置に移動する。
- 【0072】 18 ビベッティングユニットとビベット先端を有する第1アームは、ビベット先端保持器からプラットフォーム上の試薬容器011に移動する。
- 【0073】 19 試薬受渡し手順(第1アーム)
ビベット先端を有するビベッティングユニット(もし必要なら隔壁が貫通される)を降下させ、
液体の必要量を先端に吸い込み、
ビベット先端と液体を有するビベッティングユニットが引き上げて外される。
- 【0074】 20 ビベット先端と液体を有するビベッティングユニットを備えた第1アームが増幅容器の開口の隣の「待機」位置の中に移動する。
- 【0075】 21 蓋を有する第2アームは、試薬容器の開口に移動する。
- 【0076】 22 蓋をし、密閉する処理手順(第2アーム)
蓋を有する第2アームは、容器開口の上に移動し、
蓋は、容器の上に降下され、
蓋は、取外しジャケット710を用いて開口装置のテーパー付き取外しプラグから引き外され、
容器は蓋で密閉され、
第2アームは「待機」位置に移動する。
- 【0077】 23 開口および取外し装置を有する第2アームは、「待機」位置から複合プレ

17

18

ート上の所定の位置の増幅容器に移動する。

【0078】

- 24 開口および取外し装置についての処理手順（第2アーム）
装置が開始位置の中に移動し、
取外し要素が蓋の表面に配置され、
テーバー付き取外しプラグが蓋の内側に挿入され、
テーバー付き取外しプラグが押し込まれ、
蓋が容器から取り外され、
蓋を有する開口および取外しユニットが容器から取り外され、
蓋を有する第2アームが容器開口の領域から容器の隣の「待機」位置に移動する。

【0079】

- 25 ビベット先端と液体を有するビベッティングユニットを備えた第2アームが「待機」位置から増幅容器の開口に移動する。

【0080】

- 26 試薬受渡し手順（第1アーム）
ビベット先端とサンプルを有するビベッティングユニットを降下させ、
試薬液が先端から移され、
ビベット先端を有するビベッティングユニットを引き上げられ、
第1アームが廃棄物容器に移動し、
使用済みの先端が解除され、
第1アームが開始位置の中に移動する。

【0081】

- 27 蓋を有する第2アームが増幅容器の開口に移動する。

【0082】

- 28 蓋をし、密閉する処理手順（第2アーム）
蓋を有する第2アームは、容器開口の上に移動し、
蓋は、容器の上に降下され、
蓋は、取外しジャケットを用いて開口装置のテーバー付き取外しプラグから引き外され、
容器は蓋で密閉され、
第2アームは「待機」位置に移動する。

【0083】工程15～28は、増幅容器の中に試薬を新しく添加する度毎に実行すべきサイクルを表現している。

* タクーポリメラス(Taq-polymerase)（商品名、DNA重合体）、およびプライマー）に関して、試薬添加の3サイクルが必要ならば、さらに28の工程が実行されなければならない。

【0084】もし、ホフマンローシュ社(Hoffman-La Roche Company)製の市販キット（PCR緩衝剤、

* 【0085】

- 68 ビベッティングユニットを有する第2アームが開始位置の中に移動する。
69 溶液中の増幅溶液が、前述のキットまたはサーモサイクラーにおいて推奨される熱プログラムを経る。

【0086】

- 70 終了
71 開口および取外し装置を有する第2アームが、開始位置から複合プレート上の所定の位置にある増幅容器に移動する。

【0087】

- 72 開口および取外し装置についての処理手順（第2アーム）
装置が開始位置の中に移動し、
取外し要素が蓋の表面に配置され、
テーバー付き取外しプラグが蓋の内側に挿入され、
テーバー付き取外しプラグが押し込まれ、

19

蓋が容器から取り外され、
蓋を有する開口および取外しユニットが容器から取り外され、
蓋を有する第2アームが容器開口の領域から容器の隣の「待機」位置に移動する。

【0088】

73 ビベット先端を有するビベッティングユニットを備えた第2アームが、開始位置から増幅容器の開口に移動する。

【0089】

74 増幅混合（第1アーム）
ビベット先端を有するビベッティングユニットを降下させ、
液体の必要量を先端の中に吸い込み、
ビベット先端と液体を有するビベッティングユニットを持ち上げられる。
75 ビベット先端を有するビベッティングユニットを備えた第1アームが、増幅容器の開口の隣の「待機」位置に移動する。

【0090】

76 蓋を有する第2アームが増幅開口に移動する。

【0091】

77 蓋をし、密閉する処理手順（第2アーム）
蓋を有する第2アームは、容器開口の上に移動し、
蓋は、容器の上に降下され、
蓋は、取外しジャケットを用いて開口装置のテーバー付き取外しプラグから引き外され、
容器は蓋で密閉され、
第2アームは「待機」位置に移動する。

【0092】

78 開口および取外し装置を有する第2アームは、「待機」位置から測定セルまたはプラットフォーム上の所定の位置にある保管容器に移動する。

【0093】

79 開口および取外し装置についての処理手順（第2アーム）
装置が開始位置の中に移動し、
取外し要素が測定セルまたは保管容器の蓋の表面に配置され、
テーバー付き取外しプラグが蓋の内側に挿入され、
テーバー付き取外しプラグが押し込まれ、
蓋が容器から取り外され、
蓋を有する開口および取外しユニットが容器から取り外され、
蓋を有する第2アームが容器開口の領域から容器の隣の「待機」位置に移動する。

【0094】

80 ビベット先端とサンプル液を有するビベッティングユニットを備えた第2アームが「待機」位置から測定セルまたは保管容器の開口に移動する。

【0095】

81 試薬受渡し手順（第1アーム）
ビベット先端とサンプルを有するビベッティングユニットを降下させ、
サンプル液が先端から移され、
ビベット先端を有するビベッティングユニットを持ち上げられ、
第1アームが廃棄物容器に移動し、
使用済みの先端が解除され、
第1アームが開始位置の中に移動する。

【0096】

82 蓋を有する第2アームが測定セルまたは保管容器の開口に移動する。

【0097】

83 蓋をし、密閉する処理手順(第2アーム)

蓋を有する第2アームが容器開口の上に移動し、
蓋が容器の上に降下され、
蓋が開口装置のテーバー付き取外しプラグから引き外され、
容器が蓋で密閉され、
第2アームが「待機」位置に移動する。

【0098】手順の終了

ここに、増幅混合物は形成される増幅を直接検知するか、またはさらに反応を実行する準備が整った状態にある。

【0099】

【発明の効果】本発明によれば、容器を密閉するための個々の蓋を自動的に取外しまたは取付けすることができるので、反応容器の中で反応を連続的、自動的にかつ汚染の影響を受けることなく実行することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の蓋を有する複合プレートを示す立面断面図である。

【図2】本発明の蓋の一実施例、取外し装置および反応容器を示す立面断面図である。

【図3】本発明の蓋のもう一つの実施例、取外し装置および反応容器を示す立面断面図である。

【図4】本発明の蓋のさらにもう一つの実施例、取外し装置および反応容器を示す立面断面図である。

【図5】反応を実行するための本発明の装置の概略説明図である。

【図6】本発明のネジ蓋の一実施例を示す立面断面図である。

【図7】本発明の改良された蓋を示す立面断面図である。

【図8】本発明の取外し装置のための停止ユニットを示す断面図である。

【図9】停止要素を含む本発明の外部ケーシングを示す断面図である。

【図10】本発明の手動取外し具を示す部分断面図である。

【図11】容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【図12】容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【図13】容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【図14】容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【図15】容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【図16】容器から蓋を取り外す本発明の方法の工程を説明する断面説明図である。

【符号の説明】

* 1 反応容器

101 反応容器の内壁

102 係合部

2 保持プレート

3 保持プレートの孔

4 熱ブロック

5 蓋

500 反応容器から突出した反応容器の部分

501 ストッパー

503 蓋の表面

550 反応容器の開口の中に延びる部分

551 蓋を外すデバイス

552 密閉リング

553 介在空間

554 内壁101方向に向けられた蓋の外表面

555 隔壁

7 開口装置および取外し装置

700 テーバー付き取外しプラグ

701 取外しリング

710 取外しジャケット

2100 停止ユニット

2101 押圧片

2102 停止ジャケット

2103 停止要素

2105 押圧ピン

2106 押圧バネ

2001 マウンティング

2002 外部ケーシング

2003 対抗サポート

2004 停止バネ

2005 交差スロットネジ

010 反応容器および蓋を有する複合プレート

011 試薬保管容器

012 試薬保管容器

013 試薬保管容器

014 サンプル容器

015 サンプル容器

016 サンプル容器

017 ビベッティングユニット

018 ラック歯車

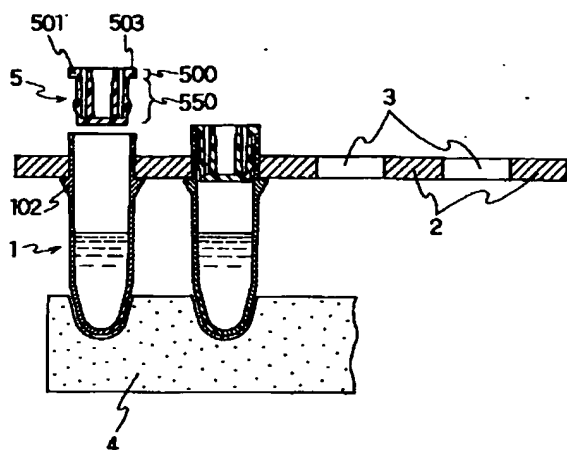
8 ネジ蓋

801 ネジ山

* 50 802 サンプリングのためのネジ蓋の開口

【図1】

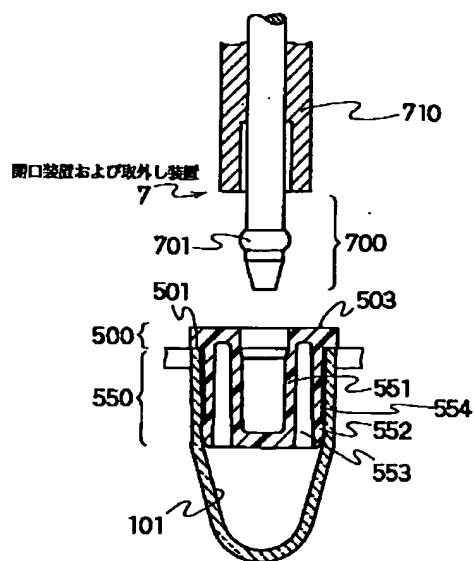
FIG. 1



1 反応容器
2 保持プレート
5 蓋

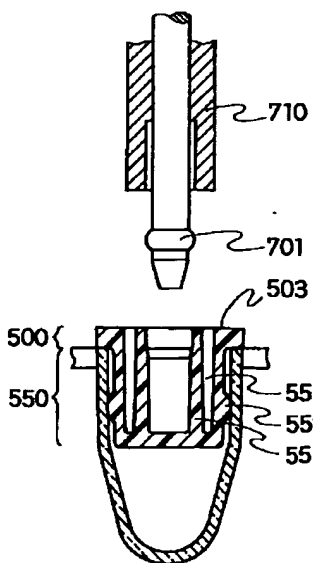
【図2】

FIG. 2



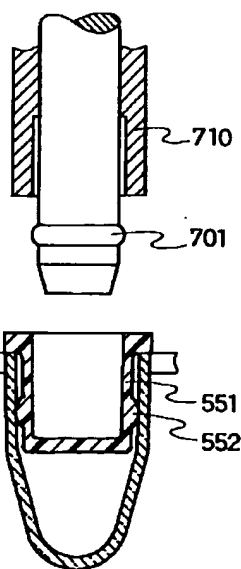
【図3】

FIG. 3



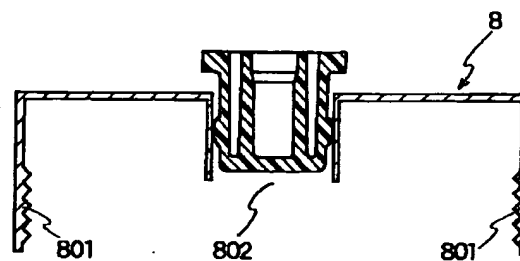
【図4】

FIG. 4



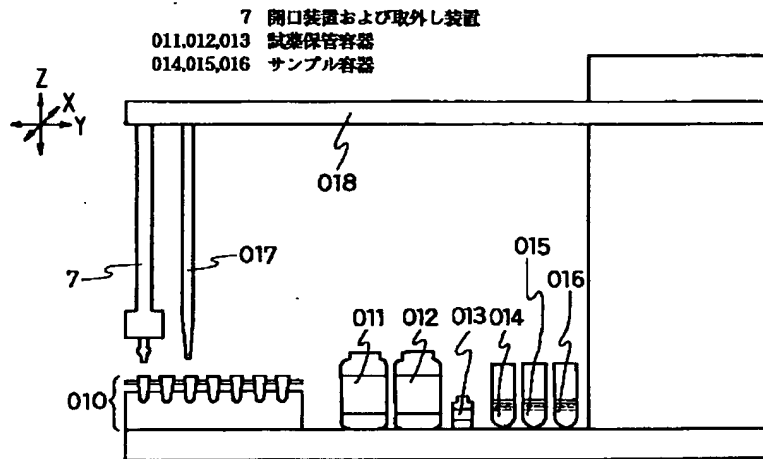
【図6】

FIG. 6



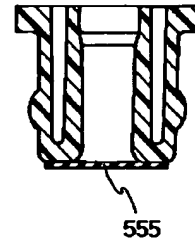
【図5】

FIG. 5



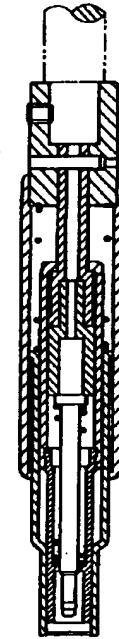
【図7】

FIG. 7



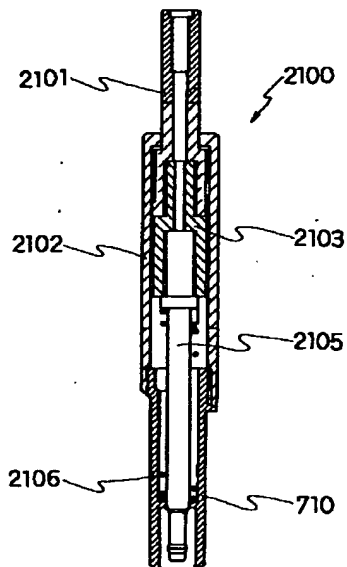
【図11】

FIG. 11



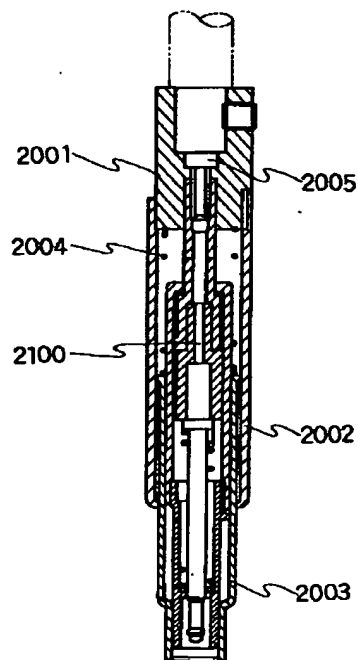
【図8】

FIG. 8



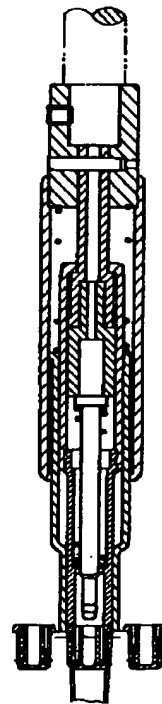
【図9】

FIG. 9



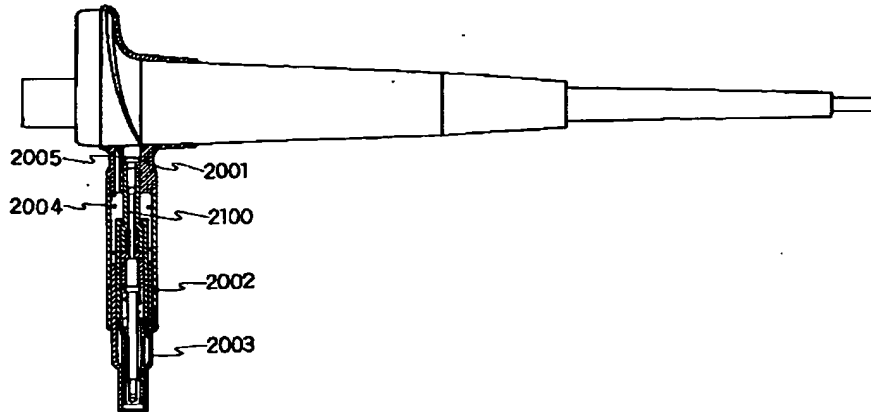
【図12】

FIG. 12



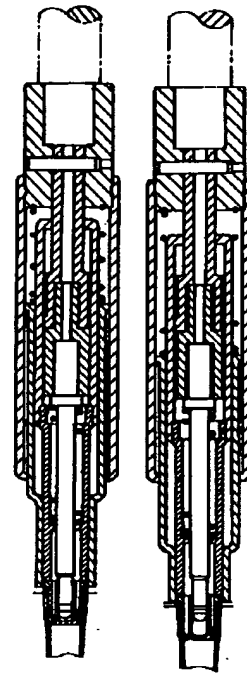
【図10】

FIG. 10



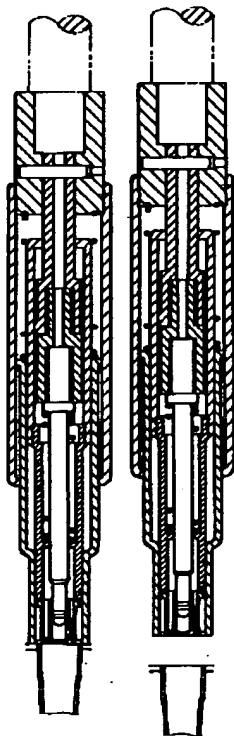
【図13】 【図14】

FIG. 13 FIG. 14



【図15】 【図16】

FIG. 15 FIG. 16



【手続補正書】

【提出日】平成7年4月11日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 反応容器の中で反応を自動的に実行するための装置であって、数個の反応容器と、数個の試薬保管容器と、数個のサンプル容器と、前記容器のうちのいくつかのための個々の密閉装置と、前記密閉装置を自動的に開くための装置とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理装置。

【請求項2】 容器の開口の中に伸びている部分を有する容器のための蓋であって、前記伸びている部分が前記容器から蓋を取り外す手段を有してなることを特徴とする蓋。

【請求項3】 数個の容器の中で化学反応を自動的に処理するための方法であって、反応容器の中に反応混合物

を供給する工程と、個々の密閉装置によって反応容器を密閉する工程と、前記密閉装置を反応容器から取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理方法。

【請求項4】 数個の試薬保管容器を用いて化学反応を自動的に処理するための方法であって、個々の密閉装置によって密閉された試薬保管容器の中に試薬液を供給する工程と、試薬保管容器から密閉装置を取り外す装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程と、試薬液を取り出す工程と、個々の密閉装置によって試薬保管容器を自動的に再び密閉する工程とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理方法。

【請求項5】 数個のサンプル容器からのサンプル液の中で化学分析を自動的に処理するための方法であって、個々の密閉装置によって密閉されたサンプル容器の中にサンプル液を供給する工程と、サンプル容器から前記密閉装置を取り外すための装置によって個々の密閉装置を自動的に開く工程とからなることを特徴とする反応連鎖の無汚染処理方法。

フロントページの続き

(72)発明者 ハンス ランゲ

ドイツ連邦共和国、デー-68623 ランベ
ルトハイム レーマーシュトラッセ 99デ

ー